



DiaMetra



CA19-9

pour analyses de routine

Détermination immunoenzymatique du CA-19-9 dans le sérum ou le plasma humain

IVD



LOT

Voir l'étiquette externe

2°C 8°C



$\Sigma = 96$ tests

RÉF DKO056

USAGE PRÉVU

Méthode immunoenzymatique colorimétrique pour la détermination quantitative de la concentration de CA 19-9 dans le sérum ou le plasma humain.

Le kit CA 19-9 est destiné exclusivement à un usage en laboratoire.

1. SIGNIFICATION CLINIQUE

Le CA 19-9 est le marqueur tumoral du groupe de glycoprotéines de type « mucine » associées aux troubles tumoraux gastro-intestinaux.

Les concentrations du CA 19-9 sont plus élevées dans les tumeurs que dans les tissus normaux ou enflammé.

Des travaux récents indiquent que le CA 19-9 présente fréquemment des valeurs élevées dans les sérums de sujets souffrant de maladies malignes gastro-intestinales comme troubles pancréatiques, colorectaux ou gastriques et carcinomes hépatiques. Avec le CEA, des valeurs élevées sont relevées dans les néoplasies de la vésicule biliaire.

Des valeurs élevées persistantes du CA 19-9 pendant les traitements thérapeutiques peuvent indiquer la présence de métastases occultes ou de maladies résiduelles. Certaines études démontrent que cet antigène est utile pour le suivi de cette maladie.

Une hausse des taux de CA 19-9 est associée à un développement progressif de la tumeur et à une faible réponse thérapeutique. Une diminution des taux de CA 19-9 laisse envisager un bon pronostic et une bonne réponse au traitement. Des valeurs élevées sont en tous les cas relevées également dans d'autres maladies sans tumeurs.

2. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le test ELISA pour la CA 19-9 repose sur la capture simultanée du CA 19-9 humain par deux anticorps monoclonaux, un immobilisé dans la microplaque, l'autre conjugué à de la peroxydase (HRP).

Après une période donnée d'incubation, la séparation libre-lié est obtenue par simple lavage de la phase solide.

L'enzyme présent dans la fraction liée catalyse la réaction entre le substrat (H_2O_2) et le substrat TMB (TMB) en développant une coloration bleue qui vire au jaune après ajout de la solution d'arrêt (H_2SO_4).

L'intensité de la couleur se développant est proportionnelle à la concentration de CA 19-9 dans l'échantillon.

La concentration de CA 19-9 dans l'échantillon est calculée sur la base d'une courbe d'étalonnage.

3. REACTIFS, MATERIAUX ET INSTRUMENTS

3.1. Réactifs et matériaux fournis dans le coffret

1. Étalon de CA 19-9 (6 flacons)

STD0 (3 mL)	RÉF DCE002/5606-0
STD1 (1 mL)	RÉF DCE002/5607-0
STD2 (1 mL)	RÉF DCE002/5608-0
STD3 (1 mL)	RÉF DCE002/5609-0
STD4 (1 mL)	RÉF DCE002/5610-0
STD5 (1 mL)	RÉF DCE002/5611-0

2. Contrôle de CA 19-9 (1 flacon, 1 mL)

La concentration du contrôle est indiqué sur le certificat de contrôle

RÉF DCE045/5603-0

3. Conjugué (1 flacon, 12 mL)

Anticorps anti CA 19-9 conjugué avec de la peroxydase de raifort (HRP)

RÉF DCE002/5602-0

4. Microplaque coatée (1 microplaque sécable)

Anticorps anti CA 19-9 adsorbé monoclonal dans la microplaque

RÉF DCE002/5603-0

5. Substrat TMB (1 flacon, 15 mL)

H_2O_2 -TMB (0,26 g/L) (éviter tout contact avec la peau)

RÉF DCE004-0

6. Solution d'arrêt (1 flacon, 15 mL)

Acide sulfurique 0,15 mol/L (éviter le contact avec la peau)

RÉF DCE005-0

7. Solution de lavage conc. 10X (1 flacon, 50 mL)

NaCl 160 g/L; Tween-20 10 g/L

Tampon phosphaté 0.2M pH 7,4

RÉF DCE054-0

3.2. Réactifs nécessaires non fournis dans le coffret

Eau distillée.

3.3. Matériaux et instruments auxiliaires

Distributeurs automatiques.

Lecteur pour microplaques (450 nm).

Remarques

Conserver tous les réactifs à $2\pm 8^\circ C$ à l'abri de la lumière.

N'ouvrir le sachet du Réactif 4 (Microplaque Coatée) qu'après l'avoir ramené à température ambiante et refermez-le tout de suite après avoir prélevé les bandes à utiliser; une fois ouvert, il est stable jusqu'à la date d'échéance du coffret.

Éviter de détacher la feuille adhésive des bandes qui ne sont pas utilisées pendant l'analyse en cours.

4. PRÉCAUTIONS D'USAGE

- Les réactifs contiennent du Proclin 300^R comme conservateur.
- Éviter l'exposition du réactif TMB/H₂O₂ à la lumière directe du soleil, aux métaux et aux substances oxydantes.
- Observer la plus grande précision dans la reconstitution et la distribution des réactifs.
- Ne pas utiliser les réactifs appartenant à des lots différents.
- Ne pas utiliser des échantillons hautement hémolysés.
- Cette méthode permet d'établir les concentrations de CA 19-9 de 0,2 à 240,0 U/mL.
- Si vous utilisez des équipements automatisés est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le kit a été correctement validées.

5. PROCÉDURE

5.1. Préparation des étalons (S₀...S₅)

Les étalons sont prêts à l'emploi et présentent les concentrations suivantes:

	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
U/mL	0	15	30	60	120	240

Une fois ouvert, il est stable 6 mois à 2-8°C.

5.2. Préparation de la solution de lavage

Avant l'usage, diluer le contenu du flacon de solution de lavage concentrée 10X avec de l'eau distillée jusqu'à un volume de 500 mL. Pour préparer des volumes moindres, respecter le rapport de dilution de 1:10. La solution de lavage diluée est stable à 2-8 °C pendant au moins 30 jours. Il est possible d'observer la présence de cristaux dans la solution de lavage concentrée : dans ce cas, agiter à température ambiante jusqu'à la dissolution complète des cristaux. Pour une plus grande précision, diluer tout le flacon de la solution de lavage concentrée à 500 mL en ayant soin de transférer également les cristaux, puis agiter jusqu'à dissolution complète.

5.3. Préparation de l'échantillon

Utiliser des échantillons de sérum ou plasma humain et observer les précautions habituelles dans le recueil des échantillons provenant d'un prélèvement par voie veineuse.

Pour une analyse approfondie permettant d'établir des valeurs dans la norme, recueillir les échantillons de sérum le matin et à jeun.

Pour obtenir le sérum, le sang doit être recueilli dans un tube de prélèvement par voie veineuse, sans additifs ou anticoagulants. Attendre que le sang coagule. Mettre l'échantillon à centrifuger pour séparer le sérum des cellules.

Les échantillons peuvent être réfrigérés à 2-8°C pendant une période maximale de 5 jours. S'il n'est pas possible de tester les échantillons dans cette période, ceux-ci peuvent être conservés à des températures allant jusqu'à -20°C et sur une période allant jusqu'à 30 jours.

Éviter les cycles répétés de congélation/décongélation.

Des échantillons microbiologiquement contaminés, hautement lipémiques ou hémolysés ne doivent pas être utilisés aux fins de cette détermination.

Les échantillons avec des concentrations supérieures à 240 U/mL peuvent être dilués avec l'étalon zéro.

5.4. Procédure

Puisqu'il faut opérer en double, préparer deux puits pour chaque point de la courbe d'étalonnage (S₀-S₅), deux pour chaque sérum de contrôle ou échantillon, un pour le blanc.

Réactif	Étalon	Échantillon /Contrôle	Blanc
Échantillon /Contrôle		100 µL	
Étalons S0-S5	100 µL		
Laisser incubé à 37°C pendant 1 heure. Retirer le contenu de chaque puits, laver les puits trois fois avec 300 µL de solution de lavage diluée.			
Conjugué	100 µL	100 µL	
Laisser incubé à 37°C pendant 1 heure. Retirer le contenu de chaque puits, laver les puits trois fois avec 300 µL de solution de lavage diluée.			
Substrat TMB	100 µL	100 µL	100 µL
Laisser incubé 15 minutes à température ambiante (22-28°C) à l'abri de la lumière.			
Solution d'arrêt	100 µL	100 µL	100 µL
Agiter doucement la microplaque. Lire l'absorbance (E) à 450 nm par rapport au blanc.			

6. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Chaque laboratoire devrait analyser les échantillons dans la gamme des niveaux élevés, normaux et bas d'œstradiol pour vérifier les prestations de l'analyse. Ces échantillons devraient être traités comme inconnus et les valeurs déterminées devraient être dans chaque test effectué. Les tableaux de contrôle de la qualité devraient être observés afin de suivre les prestations des réactifs fournis. Des méthodes statistiques appropriées devraient être employées pour vérifier la tendance. Le laboratoire devrait définir des limites d'acceptabilité des prestations d'analyse. Les autres paramètres qui devraient être contrôlés incluent les interceptions de 80, 50 et 20% de la courbe d'étalonnage pour évaluer la reproductibilité. De plus, la capacité d'absorption maximale devrait être constante avec l'expérience précédente. La déviation significative par rapport aux prestations établies peut indiquer un changement non observé des conditions expérimentales ou une dégradation des réactifs du coffret. Des réactifs frais doivent être utilisés pour déterminer le motif des variations.

7. LIMITATIONS DE LA PROCÉDURE

7.1. Prestations de l'analyse

Éviter la contamination microbienne des réactifs.

Les prestations rapportées ici ont été obtenues en employant les réactifs spécifiques répertoriés dans ces instructions pour l'emploi.

Il est important de maintenir constants les temps de réaction dans chaque puits afin d'obtenir les résultats susceptibles d'être répétés. Le pipetage des échantillons ne doit pas durer plus de 10 minutes afin d'éviter tout résultat incorrect. Si vous devez utiliser plus d'une microplaque, il est conseillé de répéter la courbe d'étalonnage.

L'ajout de la solution de substrat donne lieu à une réaction cinétique qui est interrompue par l'ajout de la solution de blocage. Par conséquent, il est nécessaire d'ajouter le substrat et la solution bloquante dans la séquence même afin d'éliminer toute variation temporelle pendant la réaction.

Les lecteurs de microplaques mesurent dans le sens vertical. Ne pas toucher le fond des puits. La suppression incomplète de la solution d'incubation et de lavage pendant les phases d'aspiration ou de décantation risque de donner des résultats impurs ou se caractérisant par une pauvre reproductibilité des réplicats.
Utiliser les composants provenant du même lot. Ne pas mélanger des réactifs provenant de lots différents.

7.2. Interprétation des résultats

Si les résultats sont élaborés automatiquement en utilisant un algorithme de calcul, il est utile que les concentrations assignées aux calibrateurs rentrent dans les ± 10 % des concentrations effectives.

8. RÉSULTATS

8.1. Extinction moyenne

Calculer l'extinction moyenne (Em) de chaque point de la courbe d'étalonnage ($S_0 - S_5$) et de chaque échantillon.

8.2. Courbe d'étalonnage

Sur un graphique des valeurs d'absorbance, tracer les valeurs calculées des extinctions moyennes (Em) de chaque étalon ($S_0 - S_5$) en fonction des concentrations. Tracer la meilleure courbe passant par les points d'étalonnage (par ex. : logistique à quatre paramètres).

8.3. Calcul des résultats

Sur le graphique, faire une interpolation des valeurs d'absorbance relatives à chaque échantillon et en lire la concentration correspondante en U/mL.

9. VALEURS DE RÉFÉRENCE

Hommes sains et femmes saines non enceintes :
 ≤ 35 U/mL

10. PARAMÈTRES CARACTÉRISTIQUES

10.1. Précision

10.1.1. Intra-essai

La variabilité à l'intérieur du même coffret a été déterminée en répliquant (10x) la mesure de trois échantillons sériques différents. La variabilité intra-essai est : $\leq 3,4\%$.

10.1.2. Inter-essai

La variabilité entre coffrets différents a été déterminée en répliquant (10x) la mesure de trois échantillons sériques différents appartenant à des lots différents. La variabilité inter-essai est : $\leq 6,6\%$.

10.2. Sensibilité

La concentration minimale de CA 19-9 mesurable avec le calcul d'absorbance dérivant de la moyenne des D.O. de 20 réplicats de l'étalon zéro plus 2 déviations standards a été établie à 0,18 U/mL.

10.3. Spécificité

La spécificité du présent coffret CA 19-9 a été vérifiée en dosant les substances suivantes.

Antigène	Concentration	% réactivité croisée
CA19-9	---	100,0%
CA 15-3	1000 U/mL	3,0%
CA125	400 U/mL	Non détecté
PSA	100 ng/mL	Non détecté
PAP	1000 ng/mL	Non détecté
AFP	10000 ng/mL	Non détecté
CEA	250 ng/mL	Non détecté

10.4. Dilution

3 échantillons de sérum avec des taux de CA 19-9 supérieur à 100 U/mL ont été dilués en série avec l'étalon zéro jusqu'à un taux de dilution de 1:8. La récupération en concentration moyenne s'est révélée égale à 112% (S.D. = 3,1%).

10.5. Récupération

3 échantillons sériques avec faibles taux de CA 19-9 ont été chargés avec des concentrations de 200, 100, 50, 25 et 0 U/mL de CA 19-9, puis dosés. La récupération moyenne est de le CA 19-9 ajouté a été égal à 92.4% (S.D. = 8,8%).

10.6. Corrélation avec autres méthodes

La méthode DiaMetra CA 19-9 a été comparée au système automatique Roche Modular : 22 échantillons de sérum a été dosée et une régression linéaire de leur concentration a été effectuée avec les résultats suivants :

$$(CA\ 19-9\ DiaMetra) = 1,33 * (CA\ 19-9\ Roche) - 18,62$$
$$R^2 = 0,808$$

11. DISPOSITIONS RELATIVES À L'ÉLIMINATION DES DÉCHETS

Les réactifs doivent être jetés conformément aux lois en vigueur.

BIBLIOGRAPHIE

1. Glenn J., et al J. Clin. Oncol. 6:462-8 (1988)
2. Hayakawa T., et al Cancer 61:1827-31 (1988)
3. Koprowski H., et al Science 212:53-5 (1981)
4. Malesci A., et al Gastroenterology 92:60-7 (1987)
5. Safi F, et al Pancreas 2:398-403 (1987)
6. Steinberg W. Am J. of Gastroenterology 85:350-355 (1990)
7. Steinberg W.M., et al Gastroenterology 90:343-9 (1986)
8. Takasaki H., et al Cancer Res. 48:1435-8 (1988)
9. Tatsuta M., et al Cancer 56:2669-73 (1985)
10. Wang T.H. et al Pancreas 1:219-23 (1986)
11. Strom BL, et al Int. J. Cancer 45:821 (1990)

Éd 05/2011

DCM056-7

DiaMetra S.r.l. - Siège social : Via Garibaldi, 18 –
20090 SEGRATE (MI) Italie
Tél. 0039-02-2139184 – 02-26921595
Fax 0039-02-2133354.
Fabricant : Via Giustozzi 35/35a – Z.I Paciana –
06034 FOLIGNO (PG) Italie
Tél. 0039-0742-24851
Fax 0039-0742-316197
Courriel: info@diametra.com

	DIA.METRA SRL	
Mod. PIS	NOTICE D'INFORMATION	

IT*Spiegazione dei simboli***GB***Explanation of symbols***FR***Explication des symboles***ES***Significado de los simbolos***DE***Verwendete Symbole***PT***Explicação dos simbolos*

	DE In vitro Diagnostikum ES Producto sanitario para diagnóstico In vitro FR Dispositif médical de diagnostic in vitro GB In vitro Diagnostic Medical Device IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro PT Dispositivos medicos de diagnostico in vitro		DE Hergestellt von ES Elaborado por FR Fabriqué par GB Manufacturer IT Produttore PT Produzido por
REF	DE Bestellnummer ES Número de catálogo FR Références du catalogue GB Catalogue number IT Numero di Catalogo PT Número do catálogo	 yyyy-mm	DE Herstellungs datum ES Fecha de fabricacion FR Date de fabrication GB Date of manufacture IT Data di produzione PT Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE Verwendbar bis ES Establa hasta (usar antes de último día del mes) FR Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) GB Use by (last day of the month) IT Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) PT Utilizar (antes ultimo dia do mês)		DE Biogefährdung ES Riesco biológico FR Risque biologique GB Biological risk IT Rischio biologico PT Risco biológico
	DE Gebrauchsanweisung beachten ES Consultar las instrucciones FR Consulter le mode d'emploi GB Consult instructions for use IT Consultare le istruzioni per l'uso PT Consultar instruções para uso		DE Chargenbezeichnung ES Código de lote FR Numéro de lot GB Batch code IT Codice del lotto PT Código do lote
 $\Sigma = xx$	DE Ausreichend für "h" Tests ES Contenido suficiente para "h" tests FR Contenu suffisant pour "h" tests GB Contains sufficient for "h" tests IT Contenuto sufficiente per "h" saggi PT Contém o suficiente para "h" testes		DE Inhalt ES Contenido del estuche FR Contenu du coffret GB Contents of kit IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit
 Max Min	DE Temperaturbereich ES Limitación de temperatura FR Limites de température de conservation GB Temperature limitation IT Limiti di temperatura PT Temperaturas limites de conservação		

	DIA.METRA SRL	
Mod. PIS	NOTICE D'INFORMATION	

SUGGESTIONS POUR LA RÉOLUTION DES PROBLÈMES / DÉPANNAGE

ERREUR CAUSES POSSIBLES / SUGGESTIONS

Aucune réaction colorimétrique du dosage

- non distribution du conjugué
- contamination du conjugué et/ou du substrat
- erreurs dans l'exécution du dosage (par ex., distribution accidentelle des réactifs dans le mauvais ordre ou en provenance des mauvais flacons, etc.)

Réaction trop faible (DO trop basse)

- conjugué non approprié (par ex., ne provenant pas du coffret original)
- temps d'incubation trop court, température d'incubation trop basse

Réaction trop intense (DO trop élevée)

- conjugué non approprié (par ex., ne provenant pas du coffret original)
- temps d'incubation trop long, température d'incubation trop élevée
- mauvaise qualité de l'eau utilisée pour la solution de lavage (bas degré de déionisation)
- lavages insuffisants (conjugué non entièrement aspiré)

Valeurs inexplicablement hors plage

- contamination des pipettes, pointes ou récipients - lavages insuffisants (conjugué non entièrement aspiré)

CV% intra-essai élevé

- les réactifs et/ou les bandes n'ont pas atteints la température ambiante avant usage
- le dispositif de lavage pour microplaques ne lave pas correctement (suggestion : nettoyer la tête du dispositif de lavage)

CV% inter-essai élevé

- conditions d'incubation non constantes (temps ou température)
- contrôles et échantillons non distribués en même temps (avec les mêmes intervalles) (contrôler l'ordre de distribution)
- variabilité intrinsèque des opérateurs